Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 1, Spring 2022 (59-74)
DOI: 10.22059/ijhs.2021.307937.1838

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۱، بهار ۱۴۰۱ (ص ۷۴-۵۹)

نشریه پژوهشی:

تاثیر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های رشدی، فلورسانس کلروفیل و ترکیبات اسانس مرزنجوش آمریکایی (*Origanum vulgare* subsp. *vulgare*)

رویا امراهی[۱]، محمدرضا مرشدلو[۲*]، عبدالله جوانمرد[۲] و علی استادی[۳]
۱، ۲، و ۳ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۲۸)

چکیده

کم‌آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک رشد، عملکرد و تولید ترکیبات مؤثره مرزنجوش را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به‌منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.)، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد ارتفاع بوته، وزن خشک، نسبت وزن برگ و گل‌آذین به ساقه، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ تحت تنش کم‌آبی کاهش یافتند. بیشترین درصد اسانس (۱/۱۵ درصد) و کمترین آسیب به صفات رشدی در تنش ملایم مشاهده گردید. همچنین تنش ملایم بطور معنی‌داری پارامترهای فلورسانس کلروفیل (Y(NO) و Fv) را در مقایسه با تنش متوسط و شدید کاهش داد. آنالیز ترکیبات اسانس نشان داد، sabinene، (Z)-β-ocimene، (E)-β-ocimene، (E)-caryophyllene و germacren D جزء ترکیبات غالب اسانس بودند. بیشترین میزان γ-Terpinene و (E)-caryophyllene در تنش ملایم مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۳۴۴/۱ و ۱۴/۲۸ درصد افزایش یافت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد تنش ملایم می‌تواند در بهبود عملکرد کمی و کیفی مرزنجوش مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، درصد اسانس، فلورسانس کلروفیل، مرزنجوش.

Effect of water stress on growth indices, chlorophyll fluorescence and essential oil compositions of American oregano (*Origanum vulgare* subsp. *vulgare*)

Roya Emrahi[1], Mohammad Reza Morshedioo[2*], Abdollah Javanmard[2] and Ali Ostadi[3]
1. 2. 3. M.Sc. Student, Associate Professor and Ph.D. Candidate, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
(Received: Sept. 14, 2020 - Accepted: Oct. 20, 2021)

ABSTRACT

In the arid and semiarid regions, water stress mainly affects the growth, yield and secondary metabolit production of oregano. In order to determine the effect water stress on growth, physiological and phytochemicals characteristic of American oregano (*Origanum vulgare* L.), a greenhouse study based on a completely randomized design (CRD) with four treatments and three replications was performed. The plants, were subjected to four water stress conditions, including no water stress (field moisture capacity), mild (75 % FMC), moderate (55 % FMC) and sever water stress (35 % FMC). The results showed that the plant height, dry matter yield, the ratio of inflorescence weight/stem, chlorophyll index and relative water content were reduced under water stress. The highest essential oil content (1.15 %) was observed under mild water stress. Also, mild water stress significantly decreased the chlorophyll fluorescence parameters (Y(NO) and Fv) in compared with moderate and severe water stress. Analysis of the essential oil components demonstrated that in all treatements, sabinene, (*Z*)-*β*-ocimene, (*E*)-*β*-ocimene, (*E*)-caryophyllene, germacrene D and *γ*-terpinene were the major components. The highest amount of *γ*-terpinene (16.79 %) and (*E*)-caryophyllene (9.92 %) were observed in mild water stress which increased by 344.1 % and 14.28 % compared with control, respectively. Based on the obtained results, mild water stress significantly ameliorate the quality and quantity of oregano.

Keywords: Chlorophyll fluorescence, drought stress, essential oil content, oregano.

* Corresponding author E-mail: morshedloo@maragheh.ac.ir

مقدمه

خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی، رشد و نمو گیاهان را به شدت تحت تاثیر قرار داده و عملکرد گیاهان را بیش از هر عامل محیطی دیگری محدود می‌کند (Anjum *et al*., 2011). خشکی بطور کلی منجر به تغییر در صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، اکولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان شده و می‌تواند بر کمیت و کیفیت رشد و عملکرد گیاهان تأثیر منفی داشته باشد (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2020). کم‌آبی به‌دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای باعث کاهش جذب CO_2، اندازه برگ، ارتفاع ساقه و توسعه ریشه می‌شود. همچنین تنش کم‌آبی روابط آبی گیاه را مختل و راندمان مصرف آب را کاهش و باعث ایجاد اختلال در تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و تبادل گازی با محیط را کاهش می‌دهد که این عوامل در نهایت منجر به کاهش رشد و بهره‌وری گیاه می‌گردد (Anjum *et al*., 2011). فتوسنتز عامل اصلی تعیین‌کننده رشد و عملکرد گیاهان است. توانایی انجام فتوسنتز تحت شرایط تنش‌زای محیطی برای بهبود و حفظ ثبات عملکرد بسیار مهم می‌باشد. سنجش فلورسانس کلروفیل در سال‌های اخیر به‌عنوان یک روش سریع، حساس و غیرتخریبی برای بررسی وضعیت کلروفیل در گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. در واقع مقدار فلورسانس کلروفیل به عنوان معیاری برای سنجش سالم بودن غشای تیلاکوئیدی و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I در نظر گرفته می‌شود (Momenpour *et al*., 2015).

گیاهان دارویی، غنی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند. این ترکیبات اگرچه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها بطور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Morshedloo *et al*., 2017b). بطور کلی نظر بر این است که تولید متابولیت‌های ثانویه، برای تنظیم سازگاری گیاهان نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیطی صورت گرفته و به منزله‌ی بکار افتادن یک نوع جریان دفاعی برای استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی بحساب می‌آید. در واقع زمانی که برخی عوامل محیطی تغییر می‌کنند، موجود زنده برای بقای خود بایستی به نحوی با محیط جدید سازگار شود که این سازگاری بر پایه یک جریان و فرآیند بیوشیمیایی استوار است. بنابراین گیاهان دارویی برخلاف همه محصولات کشاورزی که در شرایط تنش کم‌آبی از نظر میزان تولید لطمه می‌بینند، ممکن است در این شرایط تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش داده و در نتیجه بازدهی اقتصادی بهتری داشته باشند (Morshedloo *et al*., 2017a).

مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) گیاهی معطر و چندساله است که منشا آن نواحی مدیترانه می‌باشد. به دلیل وجود ترکیبات فنلی و اسانس در پیکره رویشی بویژه در برگ‌ها، موجب استفاده گسترده از این گیاه در صنایع غذایی و دارویی شده است (Morshedloo *et al*., 2018c; Andi *et al*., 2012). مرزنجوش دارای طیف وسیعی از ترکیبات موثره از جمله فلاونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، استرول‌ها، ویتامین‌ها و ترکیبات ترپنوئیدی (اسانس) می‌باشد. ترکیبات موثره موجود در مرزنجوش دارای خواص دارویی متعددی از جمله، خواص ضدقارچی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی می‌باشند. این گیاه به سهولت قادر به تحمل خشکی می‌باشد ولی برای افزایش عملکرد، گیاهان باید تحت آبیاری منظم و مناسب قرار گیرند (Omidbaigi, 2005).

بر اساس گزارشات فائو ۹۰ درصد از کشور ایران در نواحی خشک و نیمه‌خشک واقع شده است. متوسط بارندگی سالانه در ایران ۲۷۵-۲۲۴ میلی‌متر است که ۷۰ درصد کمتر از متوسط جهانی (۹۹۰ میلی‌متر در سال) می‌باشد. گزارش‌های جهانی تغییرات اقلیمی، کاهش بارندگی، افزایش دما و خشکسالی را برای این منطقه پیش‌بینی کرده‌اند. لذا اثرات زیانبار دوره‌های خشکسالی و عدم وجود منابع جایگزین آب برای تولید محصول از نگرانی‌های عمده برای کشاورزان می‌باشد که منجر به کاهش تولید و عملکرد محصولات می‌شود (Biglari *et al*., 2019; Karimi *et al*., 2017).

در مطالعه صورت‌گرفته روی جمعیت‌های مرزنجوش بومی ایران مشخص شد که تنش کم‌آبی

عملکرد گیاه را کاهش داده ولی درصد اسانس بسته به جمعیت کاهش یا افزایش پیدا می‌کند (Morshadloo *et al*., 2017b). در بررسی اثر تنش کم‌آبی بر صفات مورفولوژیک و میزان ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)، مشخص گردید که تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین و ترکیبات اسانس می‌شود (Babaee *et al*., 2010). در مطالعه‌ی دیگری روی گیاه مرزنجوش، مشاهده شد که با افزایش میزان تنش خشکی، وزن‌تر و عملکرد اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (Said-Al Ahl & Hussein., 2010). در پژوهشی روی جمعیت‌های مختلف مرزنجوش تحت شرایط تنش خشکی گزارش شد که عملکرد اسانس، بسته به زیرگونه و شدت تنش افزایش و یا بدون تغییر ماند ولی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس تحت شرایط تنش در زیرگونه‌های مورد بررسی تغییر معنی‌داری را نشان ندادند (Azizi *et al*., 2009). هدف از تولید تجاری گیاهان دارویی، به دست آوردن بیوماس بالاتر همراه با افزایش مواد موثره در واحد سطح است. بنابراین آگاهی از عوامل مدیریتی مناسب در مناطق خشک و نیمه‌خشک و کم‌آبی برای به دست آوردن حداکثر عملکرد گیاهان دارویی از جمله مرزنجوش بسیار مهم می‌باشد. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر تنش کم‌آبی بر صفات رویشی، شاخص‌های فلورسانس و ترکیب‌های اسانس مرزنجوش آمریکایی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۷ بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح آبیاری (۱۰۰، ۷۵، ۵۵ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی) بودند. بذور مربوط به مرزنجوش آمریکایی (American oregano) از کمپانی ریچترز کانادا (RICHTERS HERBS, Goodwood, ON L0C 1A0 Canada) خریداری شدند. بذور بصورت یکنواخت در سینی‌های کشت و در بستر کشت حاوی کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۱:۲ کشت شدند. بعد از اینکه گیاهچه‌ها به اندازه مطلوب رسیدند به گلدان‌های پلاستیکی پنج لیتری که حاوی ۵۰ درصد خاک مزرعه، ۲۵ درصد ماسه، ۱۵ درصد کود دامی پوسیده و ۱۰ درصد پرلایت بودند، انتقال داده شدند. خاک مورد استفاده در این آزمایش لومی-رسی بود که از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه تهیه شده بود. گلدان‌ها به صورت وزنی و یکسان با مخلوط خاکی ذکر شده پر شدند. آبیاری گلدان‌ها تا دو هفته پس از انتقال نشاها بصورت مرتب و براساس نیاز گیاه و در حد ظرفیت زراعی خاک انجام و اعمال تیمارها پس از آن صورت گرفت. سپس با استقرار مناسب گیاهچه‌ها، تنش کم‌آبی تا زمان گلدهی کامل (۶۰ روز) اعمال گردید. برای تعیین رطوبت خاک در حالت ظرفیت زراعی، ابتدا گلدان‌ها تا حد اشباع آبیاری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، هر ۲ ساعت گلدان‌ها توزین شدند. بعد از ثابت شدن وزن گلدان‌ها، از هر گلدان یک نمونه خاک تهیه و وزن آن توزین گردید. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و به مدت ۴۸ ساعت در آن قرار گرفتند. لازم به ذکر است که برای بدست آوردن درصد رطوبت خاک درحالت ظرفیت زراعی از رابطه زیر استفاده گردید:

$$\text{رطوبت خاک (درصد)} = \frac{(W_f - W_d)}{W_d} \times 100 \qquad (۱)$$

W_f: وزن خاک در ظرفیت زراعی

W_d: وزن خاک خشک شده در آون

در طول فصل رشد، گلدان‌ها به منظور تأمین مناسب رشد گیاهان سه بار با محلول هوگلند آبیاری شدند. بعد از اتمام دوره تنش کم‌آبی، صفاتی شامل: ارتفاع بوته، وزن تر و خشک، نسبت وزن گل‌آذین به ساقه، محتوای نسبی آب برگ، پارامترهای فلورسانس کلروفیل، شاخص کلروفیل و درصد اسانس اندازه‌گیری شدند. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌های برداشت از سه گلدان (سه گلدان از هر سطح تنش) به مدت یک هفته در سایه نگهداری شدند. به منظور استخراج اسانس از گل آذین و برگ گیاه از دستگاه کلونجر استفاده شد. همچنین برای استخراج اسانس از کلونجر استفاده گردید. اسانس‌گیری به مدت سه ساعت صورت گرفت، ابتدا اسانس‌های استخراج شده با

سولفات سدیم خشک آبگیری و سپس داخل ویال شیشه‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند (Ahmadi *et al*., 2020). لازم به ذکر است که در هر یک از سطوح تنش از سه تکرار اسانس‌گیری به عمل آمد و آنالیز آماری هم از سه تکرار صورت پذیرفت. بعد از اسانس‌گیری، درصد اسانس براساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید (Morshedloo *et al*., 2018a):

$$\text{درصد اسانس} = \frac{\text{وزن اسانس (گرم)}}{\text{وزن خشک گل آذین و برگ (گرم)}} \times 100 \quad (۲)$$

شاخص کلروفیل در آغاز گلدهی توسط دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD) مدل Spad 502 Plus ساخت کشور ژاپن، از آخرین برگ کاملاً توسعه یافته در پنج بوته اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از هر گیاه ۶ عدد برگ سالم انتخاب و وزن تر آن‌ها با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها درون لوله‌های آزمایش که حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود به مدت ۲۴ ساعت در داخل یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه برگ‌ها از لوله آزمایش خارج و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه گردید که در این رابطه FW، DW و TW به ترتیب وزن‌تر، خشک و اشباع برگ می‌باشند (Rahimi *et al*., 2010):

$$RWC\ (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad (۳)$$

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

پس از اعمال تنش‌کم‌آبی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل شامل فلورسانس حداکثر (Maximum fluorescence- Fm)، فلورسانس حداقل (Minimum fluorescence- F0)، فلورسانس متغیر (Variable fluorescence- Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Maximum photochemical quantum yield of photosystem II- Fv/Fm)، فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به‌عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II (Water degradation complex- Fv/F0)، کارایی کوانتومی غیر فتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II (Quantum yield of non-regulated non-photochemical- Y(NO)) و کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II (Effective photochemical quantum yield of photosystem II- Y(II)) با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل (PAM 2500-WALZ, Germany) از آخرین برگ‌های توسعه یافته در حالت روشنایی بدون در نظر گرفتن تاریکی مورد سنجش قرار گرفت (Klughammer & Schreiber, 2008).

شناسایی ترکیبات اسانس

برای شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف سنجی جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS (۵ درصد فنیل متیل پلی سیلوکسان، به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسیده سپس به‌تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگه‌داری شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود. محفظه تزریق در حالت تقسیم (نسبت تقسیم ۱:۳۰) تنظیم شده بود و محدوده جذب جرمی از ۴۰ تا m/z ۴۰۰ بود. به منظور محاسبه شاخص بازداری پیک‌ها، مخلوطی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک (C8-C40) تحت شرایط تحلیلی بالا به داخل سیستم GC تزریق شد. نرم افزار مورد استفاده Chemstation بود. محاسبه و شناسایی ترکیبات اسانس به کمک شاخص‌های بازداری خطی آن‌ها و مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتاب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت. برای جداسازی

ترکیبات از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون VF-5MS استفاده شد. دمای تزریق و آشکارساز به‌ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شده بودند. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴ استفاده شده بود. نمونه‌های اسانس به نسبت ۱:۱۰۰ در هگزان رقیق‌سازی و به میزان ۱ میکرولیتر تزریق شدند. کمی کردن ترکیبات اسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح پیک و بدون استفاده از ضرایب اصلاح انجام شد (Morshedloo *et al*., 2018c). در نهایت بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۳ انجام شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

اثر تنش کم‌آبی بر ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین (۴۷/۱۶ سانتی‌متر) و کمترین (۲۸/۳۳ سانتی‌متر) میزان ارتفاع بوته به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد. همچنین، تنش شدید منجر به کاهش ۳۹/۹ درصد ارتفاع بوته نسبت به آبیاری نرمال گردید (جدول ۲). ارتفاع گیاه به عنوان یکی از شاخص‌های مهم رشدی، برای نشان دادن رشد محصول و جذب نیتروژن در مرحله رشد رویشی گیاه بحساب می‌آید و یکی از صفات مهمی می‌باشد که عملکرد محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jiang *et al*., 2020). تنش کم‌آبی با کاهش توژسانس سلولی و ممانعت از رشد و نمو، تقسیم و طویل شدن سلول‌ها باعث کاهش رشد طولی قسمت‌های هوایی گیاه خواهد شد. در تنش کم‌آبی، هدایت روزنه‌ای بر اثر افزایش مقاومت در برابر انتشار گاز کربن دی اکسید بدلیل مهار فعالیت روبیسکو، کاهش یافته که این امر می‌تواند منجر به افزایش پتانسیل آب گیاه شود (Varma *et al*., 2018). در پژوهشی با بررسی سطوح مختلف تنش کم‌آبی روی آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) گزارش کردند که با افزایش سطوح تنش کم‌آبی، ارتفاع بوته کاهش یافت. بطوریکه بیشترین و کمترین ارتفاع بوته به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد. همچنین آبیاری نرمال منجر به افزایش ۳۲/۹ درصد ارتفاع بوته نسبت به شاهد گردید (Bahreininejad *et al*., 2013).

وزن‌تر و خشک گیاه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کم‌آبی در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک مرزنجوش معنی‌دار گردید (جدول ۱). با افزایش تنش کم‌آبی، وزن تر کاهش یافت بطوریکه تنش شدید منجر به کاهش ۳۹/۵۴ درصدی وزن‌تر نسبت به شاهد گردید. همچنین وزن خشک گیاه در تنش‌های ملایم، متوسط و شدید به ترتیب ۶/۶، ۱۳/۶ و ۳۷/۱ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۲). با توجه به محدودیت بارندگی در کشورهای خاورمیانه از جمله ایران، تولید مرزنجوش با توجه به شرایط خشکی به شدت محدود شده است (Morshedloo *et al*., 2017b). کاهش در عملکرد وزن تر و خشک با افزایش تنش کم‌آبی ممکن است بدلیل تخصیص ترجیحی و بیشتر مواد به ریشه‌ها بدلیل محدود شدن رطوبت در خاک و یا کاهش محتوای کلروفیل و در نتیجه کاهش کارایی فتوسنتزی باشد (Govahi *et al*., 2015). در اثر تنش کم‌آبی گیاه با بستن روزنه‌ها سعی در به حداقل رساندن تعرق داشته و همین امر باعث کاهش تبادلات گازی شده و دی اکسید کربن ورودی کاهش یافته ولی اکسیژن افزایش می‌یابد که موجب کاهش فعالیت کربوکسیلاسیونی آنزیم ریبولوز ۱و۵-بی‌فسفات کربوکسیلاز/ اکسیژناز (روبیسکو) می‌گردد و در نهایت باعث کاهش تولید ماده خشک خواهد شد (Madhava *et al*., 2006). همچنین افزایش ماده خشک تولیدی در شرایط آبیاری مطلوب می‌تواند بدلیل گسترش بیشتر سطح برگ و نیز دوام سطح برگ باشد که با ایجاد منبع بیولوژیکی کارآمد برای استفاده هر چه بیشتر از نور دریافتی باعث افزایش تولید ماده خشک خواهد شد (Amani Machiani *et al*., 2021; Ahmadi *et al*., 2021).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم‌آبی بر صفات رشدی، فیزیولوژیکی و درصد اسانس مرزنجوش آمریکایی.

Table 1. Results of variance analysis effect of water stress on growth, physiological traits and essential oil content of American oregano.

Source of variation	df	Mean of squares						
		Plant height	Fresh weight	Dry weight	Inflorescence weight/stem	Chlorophyll index	Relative water content	Essential oil content
Water stress	3	189.40**	534.12**	88.95**	20.91**	93.21**	64.24**	0.402**
Erorr	8	0.68	6.41	1.91	1.001	3.49	1.8	0.03
Coefficient of variation (%)		2.22	3.78	4.79	17.53	5.13	2.34	27.33

** و ns: به‌ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, ns: Significantly difference at 1% level of probability and non-significantly difference, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر تنش کم‌آبی بر صفات رشدی، فیزیولوژیکی و درصد اسانس مرزنجوش آمریکایی.

Table 2. Means comparison effect of water stress on growth, physiological traits and essential oil content of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare*

Growth and biochemistry traits							
Water stress	Plant height (cm)	Fresh weight (g per pot)	Dry weight (g per pot)	Inflorescence weight/stem (g per pot)	Chlorophyll index	Relative water content (%)	essential oil content (%)
I_1	47.16^{a}	81.33^{a}	33.7^{a}	8.66^{a}	42.26^{a}	62.78^{a}	0.7^{b}
I_2	39^{b}	70.26^{b}	31.46^{ab}	6.9^{a}	39.3^{a}	58.53^{b}	1.15^{a}
I_3	34.33^{c}	66.86^{b}	29.1^{b}	4.66^{b}	34.6^{b}	55.94^{c}	0.46^{bc}
I_4	28.33^{d}	49.16^{c}	21.2^{c}	2.6^{c}	29.53^{c}	51.74^{d}	0.3^{c}

I_1: شاهد (ظرفیت زراعی)، I_2: تنش‌کم‌آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، I_3: تنش کم‌آبی متوسط (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و I_4: تنش‌کم‌آبی شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی).

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

I_1: Control (Field moisture capacity), I_2: Mild water stress (75% Field moisture capacity), I_3: Moderate water stress (55% Field moisture capacity), I_4: Severe water stress (35% Field moisture capacity).

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly difference at 5% probability level using Duncan test.

در پژوهشی با اعمال تنش کم‌آبی روی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) گزارش کردند که تنش کم‌آبی موجب کاهش ارتفاع، عملکرد اندام هوایی و عملکرد اسانس نسبت به شاهد گردید (Safikhani et al., 2007). در آزمایشی دیگر که به منظور بررسی تأثیر تنش‌کم‌آبی بر رشد، درصد و ترکیبات شیمیایی اسانس دو گونه ریحان (*Ocimum* sp.) انجام شد، مشخص شد که وزن‌تر، خشک و ارتفاع گیاهان به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر تنش‌کم‌آبی قرار گرفت (Khalid, 2006).

نسبت وزن برگ و گل‌آذین به ساقه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نسبت وزرن برگ و گل‌آذین به ساقه تحت تأثیر معنی‌دار اثر تنش کم‌آبی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). با توجه به استحصال اسانس از بخش‌های مختلف گیاهان دارویی، نسبت وزن برگ و گل‌آذین به ساقه یکی از شاخص‌های مهم در گیاهان دارویی محسوب می‌شود. با افزایش تنش کم‌آبی نسبت وزن خشک برگ و گل‌آذین به ساقه کاهش یافت بطوریکه بیشترین (۸/۶۶ گرم در گلدان) و کمترین (۲/۶ گرم در گلدان) میزان آن به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد (جدول ۲). از آنجایی که بیشترین اسانس مرزنجوش در گل آذین و برگ می‌باشد می‌توان اظهار داشت که هر چقدر این نسبت بیشتر شود، میزان اسانس تولیدی بیشتر خواهد شد (Morshedloo *et al*., 2018b). تنش کم‌آبی گسترش ریشه را متأثر خواهد ساخت. احتمالاً نسبت وزن خشک ریشه به اندام‌های هوایی از طریق تعادل بین جذب آب

توسط ریشه و انجام فتوسنتز به وسیله اندام‌های هوایی کنترل می‌شود. توسعه اندام‌های هوایی تا وقتی ادامه خواهد یافت که جذب آب توسط ریشه انجام شود. در اثر تنش خشکی توسعه برگ و فتوسنتز کاهش خواهد یافت و در نتیجه مواد فتوسنتزی کمتری به ریشه انتقال خواهد یافت و با افزایش خشکی نوک ریشه تورژسانس خود را از دست خواهد داد (Taiz & Zeiger, 2002). در پژوهشی با ارزیابی فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی اسانس در مرزنجوش‌های بومی ایران تحت تنش کم‌آبی گزارش کردند که با افزایش تنش، نسبت وزن برگ و گل‌آذین به ساقه کاهش یافت بطوریکه بیشترین و کمترین میزان این نسبت به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد (Morshedloo, 2016). در مطالعه‌ای دیگر تنش کم‌آبی تعداد شاخه در بوته، گل در بوته و طول پایه در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) را کاهش داد (Razmjoo *et al*., 2008). همچنین کاهش وزن‌خشک در قسمت هوایی در گیاهان نعناع و رزماری (*Mentha spicata, Rosmarinus officinalis*) تحت تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی گزارش شده است (Delfine *et al*., 2005).

شاخص کلروفیل

اثر تنش کم‌آبی بر شاخص کلروفیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). بیشترین میزان شاخص کلروفیل (۴۲/۲۶) در آبیاری نرمال بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با تنش ملایم نداشت. آبیاری نرمال به ترتیب منجر به افزایش ۷/۵۳، ۲۲/۱ و ۴۳/۱ درصدی شاخص کلروفیل نسبت به تنش ملایم، متوسط و شدید گردید (جدول ۲). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش کم‌آبی معمولاً ناشی از تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species- ROS) می‌باشد که موجب آسیب به ساختار کلروپلاست، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، تخریب پیش‌ساز کلروفیل و اکسیداسیون کلروفیل می‌شود که در نهایت منجر به مهار بیوسنتز کلروفیل خواهد شد (Kabiri *et al*., 2014). علت اصلی کاهش میزان کلروفیل تحت شرایط خشکی شدید، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز بوده که باعث اختلال در بیوسنتز کلروفیل می‌شود (Abaaszsadeh *et al*., 2007). در اکثر گونه‌های گیاهی، تنش کم‌آبی باعث کاهش سطح کلروفیل می‌شود (Pirzad *et al*., 2011; Liu *et al*., 2011). همچنین کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان دارویی همچون زنیان (*Trachyspermum Ammi*) (Azhar *et al*., 2011) و نعناع ژاپنی (*Mentha arvensis* L.) (Misra & Srivastava, 2000) و بابونه (Pirzad *et al*., 2011) نیز گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در پژوهشی با بررسی تاثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گزارش کردند که بیشترین میزان کلروفیل a و b و همچنین کلروفیل کل به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بود (Abbaszadeh *et al*., 2007).

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کم‌آبی بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). با افزایش سطوح تنش کم-آبی، محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت بطوریکه بیشترین (۶۲/۷۸ درصد) و کمترین (۵۱/۷۴ درصد) میزان آن به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد (جدول ۲). محتوای نسبی آب برگ مهم‌ترین عامل تداوم رشد گیاه و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش کم‌آبی می‌باشد (Mohammadi *et al*., 2019). محتوای نسبی آب برگ به‌عنوان شاخص مهمی از وضعیت آب گیاه در نظر گرفته می‌شود که بیانگر تعادل بین آب جذب شده توسط گیاه و میزان تعرق آن است. گیاهانی که محتوای نسبی آب بالاتری دارند در برابر تنش خشکی مقاوم می‌باشند (Prathyusha & Chaitanya, 2019). محتوای نسبی آب گیاه، به وضعیت میزان آب در سلول‌های گیاهی بویژه در شرایط تنش اشاره دارد. محتوای نسبی آب برگ در گیاهان به حجم سلول‌های گیاهی و همچنین تعادل بین میزان آب جذب شده توسط ریشه و میزان آب تعرق یافته توسط گیاه بستگی دارد. بنابراین، کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ با افزایش سطح تنش خشکی را می‌توان به کاهش جذب آب توسط ریشه و از طرفی افزایش تعرق گیاه نسبت داد (Kamanga et al., 2018). در پژوهشی روی نعناع فلفلی

(*Mentha piperita* L.) مشخص گردید که با افزایش تنش کم‌آبی محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت بطوریکه بیشترین (۹۲ درصد) و کمترین (۶۴ درصد) میزان آن به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد (Saedi *et al*., 2020).

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد اسانس تحت تأثیر معنی‌دار تنش کم‌آبی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین (۱/۱۵ درصد) و کمترین (۰/۳ درصد) میزان درصد اسانس به ترتیب در تنش ملایم و شدید بدست آمد (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی با کاهش پتانسیل آب برگ، روزنه‌ها بسته شده و بدنبال آن تعرق کاهش می‌یابد. در نتیجه این اتفاق با کم شدن غلظت کربن دی‌اکسید، فتوسنتز کاهش می‌یابد. پایین بودن غلظت کربن دی‌اکسید درون سلولی باعث کاهش واکنش‌های چرخه کالوین می‌شود که در نتیجه آن ATP و NADPH کمتری مصرف خواهد شد. این پاسخ منجر به عدم تولید مجدد گیرنده‌های الکترون ($NADP^+$) می‌گردد، با ادامه این روند الکترون در زنجیره انتقال به اکسیژن می‌رسد و باعث تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. تولید بیش از حد ROSها، باعث آسیب به ساختارهای پروتئینی، آنزیم‌های مهار کننده، لیپیدهای غشای سلولی، DNA و در نهایت مرگ سلول می‌شوند (Kabiri *et al*., 2014; Amani Machiani *et al*., 2021). معمولاً تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان دارویی در شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌یابد که این امر گیاه را درمقابل آسیب‌های نوری زیاد و کمبود احتمالی آب محافظت می‌کند. محصولات دارویی بر خلاف همه محصولات کشاورزی که در شرایط تنش خشکی از نظر تولید صدمه می‌بینند، ممکن است در این اوضاع تولید مواد شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی بالاتری داشته باشند (Morshedloo *et al*., 2017 b). تولید متابولیت‌های ثانویه برای سازگاری گیاه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و به منزله به کار افتادن یک نوع جریان دفاعی در راستای استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی به حساب می‌آید. علی‌رغم این که میزان اسانس مرزنجوش در تنش ملایم نسبت به شاهد افزایش یافته است ولی میزان اسانس تولید شده در تنش متوسط و شدید نسبت به تنش ملایم کاهش پیدا کرد. زیرا در تنش‌های شدیدتر گیاه بیشتر مواد فتوسنتزی تولیدشده را بجای رشد به تولید ترکیب‌های تنظیم‌کننده اسمزی از جمله پرولین، گلیسین بتائین و ترکیبات قندی مانند ساکارز، فروکتور و فروکتان‌ها تخصیص می‌دهد تا از این طریق شرایط لازم برای بقای حیات گیاه در تنش‌های شدیدتر فراهم شود (Morshedloo *et al*., 2017 a). افزایش درصد اسانس در تنش ملایم را می‌توان این گونه توضیح داد که با کاهش سطح برگ، تراکم‌های غده‌های ترشح کننده اسانس و تجمع اسانس در واحد بافت برگ افزایش می‌یابد. با افزایش تنش کم‌آبی، بیوسنتز ترکیب‌های ثانویه کاهش می‌یابد که در نتیجه آن محتوای اسانس تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Amani Machiani *et al*., 2021). در مطالعه‌ای که روی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت شرایط تنش کم‌آبی انجام گرفت مشخص گردید که بیشترین و کمترین میزان درصد اسانس به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش متوسط بدست آمد (Bettaieb *et al*., 2009). در مطالعه‌ای دیگر با ارزیابی سطوح مختلف تنش کم‌آبی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) گزارش شد که با افزایش تنش کم‌آبی، سطح برگ، تعداد برگ و وزن خشک برگ کاهش یافت ولی درصد اسانس با افزایش تنش کم‌آبی افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان درصد اسانس در تنش کم‌آبی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نداشت (Rahimi *et al*., 2018).

فلورسانس کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل شامل: فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II (Y(NO)) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید درحالی که اثرات تنش کم‌آبی بر فلورسانس حداقل (F_0)، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی موثر فتوسیستمII (Y (II))، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) و

فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب (Fv/Fo) معنی‌دار نبود (جدول ۳).

کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم Y(NO) II

با افزایش تنش کم‌آبی کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم‌نشده فتوسیستم Y(NO) II افزایش پیدا کرد بطوریکه بیشترین (۰/۳۴) و کمترین (۰/۲۸) میزان آن به ترتیب در تنش شدید و آبیاری نرمال مشاهد گردید (جدول ۴). بسیاری از نویسندگان بیان کرده‌اند پارامترهای فلورسانس کلروفیل برای توصیف پاسخ گیاهان به انواع تنش‌های محیطی پرکاربرد می‌باشد (Baker & Rosenqvist, 2004; Ouni *et al*., 2016; Pollastrini *et al*., 2016). می‌توان با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل میزان تحمل یا سازگاری گیاه به شرایط تنش‌زای محیطی را تخمین زد (Kalaji *et al*., 2016).

عملکرد فتوسنتزی گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی معمولاً از طریق Fv/Fm ارزیابی می‌شود و اطلاعات زیادی در مورد Y(NO) در دسترس نیست. تغییرات در Y(NO) مکمل پارامترهایی می‌باشد که از نظر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در تبدیل انرژی فتوشیمیایی و Y(II) شرکت دارند. همچنین این پارامتر یک فرآیند اتلافی مربوط به سیستم حفاظت نوری می‌باشد که مربوط به سایر اجزای غیر مرتبط با حفاظت نوری است و موجب غیر فعال شدن فتوسیستم II می‌گردد. تحت شرایط تنش خشکی شدید ممکن است مکانیسم‌های محافظت کننده گیاهی به خوبی عمل نکنند (Shin *et al*., 2021). این پارامترها اطلاعاتی در مورد انرژی نوری جذب شده را ارائه می‌دهند. Y(NO) شامل بخشی از انرژی نوری است که به طور غیرمستقیم به صورت گرما به دلیل بسته بودن مراکز واکنشی فتوسیستم II از بین می‌رود. افزایش مقدار Y(NO) نشان دهنده این است که هم تبدیل انرژی فتوشیمیایی و هم مکانیسم‌های نظارتی محافظ (Non-photochemical quenching-NPQ) ناکارآمد می‌باشند و گیاهان قرار گرفته در معرض تنش غیر زیستی، دچار آسیب فیزیکی در مراکز واکنش PSII می‌شوند (Klughammer & Schreiber, 2008). در پژوهشی با بررسی سطوح مختلف تنش کم‌آبی روی کاهو (*Lactuca sativa* L.) گزارش کردند که بیشترین میزان Y(NO) در تنش کم‌آبی شدید بدست آمد (Shin *et al*., 2021). در پژوهشی دیگر با بررسی تنش خشکی و سطوح مختلف آبسزیک اسید روی ژینورا (*Gynura cusimbua*) گزارش کردند که بیشترین میزان Y(NO) در تنش خشکی و بدون محلول‌پاشی آبسزیک اسید بدست آمد (Cai & Feng, 2020).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل مرزنجوش آمریکایی.

Table 3. Results of variance analysis effect of water stress on chlorophyll fluorescence indices of American oregano.

		Mean of squares						
Source of variation	df	Y(II)	Y(NO)	Fv/Fo	Fv/Fm	Fv	Fo	Fm
Water stress	3	0.0002^{ns}	0.001^{**}	0.12^{ns}	0.0009^{ns}	0.43^{**}	0.029^{ns}	0.22^{**}
Erorr	8	0.00006	0.00001	0.05	0.0008	0.0	0.009	0.0
Coefficient of variation (%)		1.14	1.17	9.81	4.22	0.09	10.05	0.04

** و ns: به‌ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, ns: Significantly difference at 1% level of probability and non-significantly difference, respectively.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل مرزنجوش آمریکایی.

Table 4. Means comparison effect of chlorophyll fluorescence indices of American oregano.

	Chlorophyll fluorescence indices		
Water stress	Y(NO)	FV	Fm
I1	0.28^{c}	1.73^{d}	3.4^{a}
I2	0.3^{b}	2.27^{c}	3.3^{b}
I3	0.31^{b}	2.63^{a}	2.92^{c}
I4	0.34^{a}	2.40^{b}	2.83^{d}

I_1: شاهد (ظرفیت زراعی)، I_2: تنش‌کم‌آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، I_3: تنش کم‌آبی متوسط (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و I_4: تنش‌کم‌آبی شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی).

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

I_1: Control (Field moisture capacity), I_2: Mild water stress (75% Field moisture capacity), I_3: Moderate water stress (55% Field moisture capacity), I_4: Severe water stress (35% Field moisture capacity).

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly difference at 5% probability level using Duncan test.

فلورسانس متغیر (Fv)

بیشترین (۲/۶۳) و کمترین (۱/۷۳) میزان فلورسانس متغیر به ترتیب تنش متوسط و آبیاری نرمال بدست آمد. همچنین تنش متوسط به ترتیب منجر به افزایش ۱۵/۹ و ۹/۵۸ درصدی فلورسانس متغیر نسبت به تنش ملایم و شدید گردید (جدول ۴). فلورسانس متغیر از طریق اختلاف فلورسانس حداکثر (Fm) با فلورسانس حداقل (F0) به دست می‌آید و بیانگر حداکثر عملکرد کوانتومی فلورسانس کلروفیل و وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به اولین پذیرنده الکترون (Quinone A) را نشان می‌دهد (Baker & Rosenqvist, 2004). تنش خشکی با تأثیر بر میزان جذب دی‌اکسیدکربن و حضور کربن در سیستم فتوسنتزی، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده و فلورسانس متغیر کاهش می‌یابد (Mehta *et al*., 2011). اصولاً مقدار فلورسانس کلروفیل هنگامی که پذیرنده الکترون در حالت احیاء باشد، زیاد است و به این دلیل مقدار فلورسانس متغیر (Fv) نیز در این حالت زیاد می‌شود اما زمانی که پذیرنده الکترون در حالت اکسیداسیون است، مقدار فلورسانس کلروفیل a کم می‌باشد و میزان فلورسانس متغیر (Fv) کاهش می‌یابد (Saffari *et al*., 2013). از آنجایی که فلورسانس متغیر نشانگر احیای کامل پذیرنده الکترون می‌باشد، بنابراین می‌توان گفت افزایش این شاخص و یا کاهش کمتر آن در برخورد با تنش خشکی دلیلی بر آسیب کمتر به سیستم فتوسنتزی می‌باشد. در پژوهشی با بررسی تأثیر تنش کم‌آبی (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ تخلیه رطوبتی) و شدت نور بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل روی آلوئه ورا (*Aloe vera* L.) گزارش کردند که بیشترین و کمترین میزان فلورسانس متغیر به ترتیب در آبیاری پس از ۴۰ و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی بدست آمد (Hazrati *et al*., 2016).

فلورسانس حداکثر (Fm)

با افزایش تنش کم‌آبی فلورسانس حداکثر روندی کاهشی داشت بطوریکه بیشترین (۳/۳۹) و کمترین (۲/۸۳) میزان آن به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش شدید بدست آمد (جدول ۴). آبیاری نرمال به‌ترتیب منجر به افزایش ۳/۰۳، ۱۶/۴۳، ۲۰/۱ درصدی فلورسانس حداکثر نسبت به تنش کم‌آبی ملایم، متوسط و شدید گردید (جدول ۴). فلورسانس حداکثر در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن همه مراکز واکنش ایجاد می‌شود (Mehta *et al*., 2011). وقتی مولکول‌های کوئینون (اولین گیرنده الکترون در فتوسیستم II) در وضعیت اکسید شده هستند (وضعیتی که مرکز واکنش فتوسیستم II فعال بوده و پذیرنده‌های الکترون که به ترتیب شامل کوئینون آ و کوئینون ب بوده انرژی را به پلاستوکوئینون (Plastoquinone-PQ) و از PQ به فتوسیستم I انتقال داده و صرف تولید ATP و NADPH می‌کنند)، در این حالت سیستم دارای کمترین فلورسانس (F0) است. به تدریج، با افزایش درجه احیا شدن، فلورسانس افزایش می‌یابد. این فرآیند تا احیای کامل ادمه یافته و مراکز احیای فتوسیستم II به تدریج بسته می‌شوند و انتقال الکترون به فتوسیستم I صورت نمی‌گیرد. در این حالت فلورسانس کلروفیل افزایش می‌یابد و مراکز فتوسیستم دارای بیشترین فلورسانس (Fm) می‌باشد. در واقع تنش خشکی با تأثیر منفی بر ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون، باعث می‌شود سیستم به سرعت به فلورسانس حداکثر برسد (Soheili Movahhed *et al*., 2017). افزایش در مقدار فلورسانس حداقل و کاهش در فلورسانس حداکثر، فعالیت فتوسیستم II را مختل می‌کند. افت فلورسانس حداکثر (Fm) ممکن است با کاهش فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه‌کننده آب و چرخه انتقال الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II مرتبط باشد (Chaves *et al*., 2009). در پژوهشی با بررسی دو زیرگونه مرنجوش (*Origanum vulgare* subspecies: subsp. *hirtum* and subsp. *gracile*) تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند که بیشترین و کمترین میزان فلورسانس حداکثر در زیر گونه *gracile* به ترتیب در تنش متوسط و شدید و در زیر گونه *hirtum* به ترتیب در آبیاری نرمال و تنش ملایم بدست آمد (Emrahi *et al*., 2021).

ترکیبات اسانس

بر اساس آنالیز کروماتوگرافی گازی ۳۸ ترکیب در اسانس مرزنجوش آمریکایی شناسایی شد (جدول ۵). به منظور آنالیز آماری، اسانس‌گیری در هر یک از سطوح تنش از

سه تکرار صورت پذیرفت و همچنین برای شناسایی ترکیبات اسانس نیز هر سه تکرار به دستگاه GC تزریق و میانگین سه تکرار در جدول ۵ ارائه شده است. ترکیبات عمده شامل، germacrene D، γ-terpinene، (Z)-β-ocimene، sabinene، (E)-β-ocimene و (E)-caryophyllene بودند. بیشترین میزان γ-terpinene و (E)-caryophyllene در تنش ملایم مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۳۴۴/۱ و ۱۴/۲۸ درصد افزایش یافت. همچنین بیشترین میزان Sabinene در تنش کم‌آبی متوسط بدست آمد که نسبت به تنش ملایم، شدید و آبیاری نرمال به ترتیب ۸۷/۶، ۳۶/۶ و ۶۱/۶ درصد افزایش یافت. علاوه براین بیشترین میزان germacrene D، (Z)-β-ocimene، (E)-β-ocimene در شرایط بدون تنش کم‌آبی مشاهد گردید. میزان ترکیب germacrene D تحت شرایط تنش ملایم، متوسط و شدید به ترتیب ۱۹/۳۷، ۲۰/۶۲ و ۱۹/۹۴ درصد بود که یک روند تدریجی در افزایش و کاهش در مقادیر مشاهده گردید. میزان ترکیبات (3-octanol، linalool، spathulenol و shyobunol) در اسانس نمونه‌های مورد آزمایش تحت سطوح مختلف تنش کم‌آبی بدون تغییر بودند. اسانس‌ها ترکیباتی با وزن مولکولی کم، نقش مهمی در تعیین کیفیت گیاهان دارویی و معطر بر عهده دارند. نسبت یک ترکیب خاص یا گروهی از ترکیبات به گروهی دیگر بر کیفیت اسانس این گیاهان تأثیرگذار می‌باشد. اگرچه متابولیت‌های ثانویه موجود در اسانس گیاهان دارویی توسط ژنوتیپ‌های گیاهی کنترل می‌شوند، اما بیوسنتز آن‌ها به شدت توسط عوامل محیطی کنترل می‌شود. در اثر تنش کم‌آبی شدید بدلیل مختل شدن چرخه کالوین، فرآیند اکسایش و کاهش اکی والانت $NADP^+$ به عنوان پذیرنده الکترون در زنجیره انتقال، کاهش می‌یابد در نتیجه مقادیر زیادی H^+ و NADPH در سلول تجمع پیدا کرده و نسبت H^+ و NADPH به +NADP افزایش می‌یابد، با ادامه این روند به دلیل توقف چرخه کالوین مقدار NADPH بیش از حد کاهش می‌یابد. در نهایت الکترون در زنجیره انتقال به اکسیژن رسیده و باعث تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Amani Machiani *et al*., 2021). H^+ و NADPH اضافی در سلول، در بیوسنتز ترکیبات ثانویه مثل فنول‌ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدهای سیانوژیک و گلوکوزینولات که به عنوان یک مکانیسم دفاعی درصد و محتویات اسانس را در گیاهان معطر تحت تأثیر قرار می‌دهند، مورد استفاده قرار می‌گیرند (Morshedloo *et al*., 2017b). چنین بنظر می‌رسد دلیل افزایش برخی ترکیبات غالب اسانس مرزنجوش در تنش‌های ملایم و متوسط (Sabinene، γ-terpinene، (E)-caryophyllene) تخصیص بیشتر کربن‌های تثبیت شده طی فرآیند فتوسنتز به تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که طی این فرآیند میزان مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از طریق کاهش خسارت گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد. از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات و دی متیل آلیل پیروفسفات، نیاز به ترکیباتی از قبیل ATP و NADPH دارند. با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبات نامبرده شده ضروری می‌باشد (Ormeno & Fernandez, 2012). با کاهش رطوبت خاک، تحرک عناصر غذایی بویژه فسفر و سایر عناصر غذایی کمتر شده و در نتیجه دسترسی گیاه به منابع غذایی کاهش خواهد یافت. زیرا عناصر غیرمتحرک از قبیل فسفر در شرایط خشکی به ذرات رس موجود در خاک چسبیده و به میزان کمتری در اختیار ریشه قرار می‌گیرد. بنابراین، در شرایط تنش خشکی شدید جذب عناصر غذایی کاهش پیدا می‌کند و به تبع آن رشد گیاه، کمیت و کیفیت اسانس تحت تاثیر قرار خواهد گرفت (Amani Machiani *et al*., 2021). در پژوهشی با بررسی سطوح مختلف تنش کم‌آبی روی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، گزارش شد که تنش کم‌آبی متوسط (آبیاری پس از ۶۰ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی) منجر به افزایش درصد و عملکرد اسانس نسبت به شاهد گردید. همچنین بیشترین میزان آلفا توجن، ۱و۸ سینئول و کامفور در تنش کم‌آبی متوسط بدست آمد (Govahi *et al*., 2015). در پژوهشی دیگر که روی مرزنجوش در زیر گونه‌ی *vulgare* انجام شده بود مشخص گردید که ترکیبات thymol، carvacrol، *p*-cymene و γ-terpinene جزء ترکیبات غالب اسانس بودند و از این بین ۵۸/۳ درصد مربوط به thymol بود

(Sarikurkcu *et al.*, 2015). همچنین در پژوهشی دیگر روی زیر گونه *vulgare* گزارش شد که ترکیبات thymol، carvacrol، *p*-cymene، *γ*-terpinene، *cis*-*α*-bisabolene و eucalyptol جزء ترکیبات غالب اسانس بودند (Vazirian *et al*., 2014). همچنین در مطالعه دیگری گزارش شد که ترکیبات caryophyllene، spathulenol، germacrene-D، α-terpineol و α-caryophyllene جزو ترکیبات غالب اسانس در زیرگونه مورد مطالعه بودند (Şahin *et al*., 2004). علاوه بر این در مطالعه‌ای که روی دو گونه مرزنجوش (*Origanum vulgare* subsp. *gracile* و *Origanum vulgare* subsp. *virens*) تحت شرایط تنش کم‌آبی انجام شد، مشخص شد که تفاوت‌هایی در ترکیبات اسانس دو زیرگونه وجود داشت بطوریکه در شرایط تنش کم‌آبی در زیر گونه *O. vulgare* subsp. *Virens* ترکیب (*Z*)-*α*-bisabolene با ۴۲/۶۴ درصد و در زیر گونه *O. vulgare* subsp. *gracile* ترکیب carvacrol با ۵۲/۰۷ درصد جزو ترکیبات غالب اسانس بودند که بین سطوح مختلف تنش کم‌آبی متفاوت بود (Morshedloo *et al*., 2017b). مطالعات متعدد روی زیرگونه‌های مرزنجوش نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده در کیفیت ترکیبات، به شرایط آب و هوایی، مشخصات جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه و به سایر فاکتورهای اکولوژیکی و ژنتیکی بستگی دارد (Sarikurkcu *et al.*, 2015).

جدول ۵. تغییرات کیفی ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش تحت تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی.

Table 5. Proportion (%) changes of essential oil components in *O. vulgare* subsp. *vulgare* under different water stress levels.

No	Components	LIT RI	RI	I_1	I_2	I_3	I_4
1	n-Nonane	900	899	0.07	0.09	0.05	0.39
2	*α*-Thujene	924	923	0.19	0.65	0.17	0.11
3	*α*-Pinene	932	929	0.31	0.56	0.41	0.21
4	Camphene	946	950	0.01	0.01	0.01	0.01
5	**Sabinene**	**969**	**966**	**11.26**	**9.70**	**18.20**	**13.32**
6	*β*-Pinene	974	972	0.05	0.03	0.07	0.20
7	1-Octen-3-ol	974	975	0.01	0.01	0.01	0.01
8	3-Octanone	979	983	0.55	0.56	0.25	0.72
9	Myrcene	988	988	1.96	2.09	2.04	2.36
10	3-Octanol	988	993	0.01	0.01	0.01	0.01
11	n-Decane	1000	998	0.90	0.66	1.50	4.43
12	*α*-Phellandrene	1004	1002	0.34	0.01	0.01	0.01
13	*α*-Terpinene	1014	1013	0.72	0.93	0.47	0.30
14	*P*-Cymene	1022	1022	0.38	0.97	0.01	0.33
15	*β*-Phellandrene	1025	1025	0.46	0.15	0.01	0.01
16	**(*Z*)-*β*-Ocimene**	**1032**	**1036**	**16.21**	**13.74**	**15.35**	**13.72**
17	**(*E*)-*β*-Ocimene**	**1045**	**1044**	**10.14**	**3.18**	**5.08**	**4.84**
18	***γ*-Terpinene**	**1054**	**1055**	**3.78**	**16.79**	**2.01**	**1.46**
19	*Cis*-Sabinene hydrate	1065	1063	0.05	0.01	0.01	0.01
20	*Trans*-Sabinene hydrate	1098	1094	0.24	0.18	0.01	0.01
21	Linalool	1095	1098	0.01	0.01	0.01	0.01
22	Terpinen-4-ol	1174	1173	0.29	0.89	0.44	1.37
23	Carvacrol methyl ether	1237	1242	0.05	0.36	0.07	0.01
24	Thymol	1289	1291	0.01	0.01	0.04	0.01
25	Carvacrol	1298	1304	0.01	2.61	1.92	3.13
26	Carvacrol acetate	1370	1362	0.51	0.15	0.61	0.51
27	**(*E*)-Caryophyllene**	**1417**	**1414**	**8.68**	**9.92**	**5.89**	**7.92**
28	*γ*-Muurolene	1478	1445	0.97	0.92	0.90	0.85
29	*α*-Humulene	1452	1475	0.14	2.19	4.56	5.83
30	**Germacrene D**	**1482**	**1491**	**23.17**	**19.37**	**20.62**	**19.94**
31	Bicyclogermacrene	1500	1491	4.11	2.20	5.19	5.18
32	*β*-Bisabolene	1505	1505	0.28	0.03	0.07	0.14
33	Spathulenol	1577	1568	0.01	0.01	0.01	0.01
34	Caryophyllene oxide	1582	1575	0.67	0.31	0.65	1.24
35	Shyobunol	1688	607	0.01	0.01	0.01	0.01
	Total Indentified (%)			88.6	86.7	89.3	86.6

I_1: شاهد (ظرفیت زراعی)، I_2: تنش کم‌آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، I_3: تنش کم‌آبی متوسط (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و I_4: تنش کم‌آبی شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی).

شاخص بازداری خطی در ستون HP-5 MS با استفاده از نرمال آلکان‌های C8-C40 محاسبه شد.

I_1: Control (Field moisture capacity), I_2: Mild water stress (75% Field moisture capacity), I_3: Moderate water stress (55% Field moisture capacity), I_4: Severe water stress (35% Field moisture capacity).

RI: retention indices as determined on a HP-5 MS capillary column using a homologous series of n-alkanes (C8–C40)

همچنین مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات غالب اسانس مرزنجوش بسته به زیرگونه و نوع کموتایپ بسیار متغیر است (Morshedloo *et al*., 2018b). در مطالعه Fouad et al. (2015)، carvacrol و γ-terpinene به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس مرزنجوش شناسایی شدند. کیفیت اسانس عمدتاً با مقدار اسانس و ترکیب اسانس تعیین می‌شود. هر دو پارامتر بسته به ژنوتیپ‌ها، شرایط آب و هوایی و میزان تأمین مواد مغذی در طول کشت ممکن است به‌طور قابل توجهی متغیر باشند (Novak *et al*., 2003). تنش خشکی باعث افزایش درصد اسانس بیشتر گیاهان دارویی و معطر می‌شود زیرا در صورت تنش، بیشتر متابولیت‌ها در گیاهان تولید می‌شوند و این مواد از اکسیداسیون داخل سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (Farahani *et al*., 2009).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه مشخص گردید که تحت تنش کم‌آبی شدید وزن‌خشک، شاخص کلروفیل و نسبت وزن برگ و گل آذین به ساقه در گیاه مرزنجوش کاهش یافت. همچنین میزان اسانس تا تنش ملایم افزایش و پس از آن با افزایش شرایط تنش کم‌آبی میزان اسانس نیز کاهش یافت. علاوه بر این، پارامترهای فلورسانس کلروفیل به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر تنش کم‌آبی قرار گرفتند که بیانگر حساسیت این زیرگونه به تنش کم‌آبی شدید می‌باشد و توصیه کشت این زیرگونه در مناطقی با آبیاری متوسط، مناسب می‌باشد. نتایج آنالیز ترکیبات اسانس نشان داد که ترکیبات germacrene D، (*Z*)-*β*-ocimene، Sabinene، γ-terpinene و (*E*)-*β*-ocimene از عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این زیرگونه بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که هر چه تنش کم‌آبی افزایش یافت ماده خشک گیاهی کاهش پیدا کرد، ولی با افزایش میزان برخی از ترکیبات اسانس از جمله γ-terpinene، (*E*)-caryophyllene و sabinene همراه بود. بنابراین می‌توان از تنش کم‌آبی برای افزایش این گونه از ترکیبات اسانس استفاده کرد.

REFERENCES

1. Abbaszadeh, B., Sharifi Ashoorabadi, E., & Frajolahi, M. (2007). Effect of drought stress on physiological traits of *Melissa oggicinalis.* In: *2nd National Congress of Ecological Agriculture*, 6-7 Oct., Gorgan University, Gorgan, Iran, pp. 911-926. (In Farsi).
2. Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectrometry*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
3. Ahmadi, H., Babalar, M., Askari Sarcheshmeh, M. A., Morshedloo, M. R., & Shokrpour, M. (2020). Effects of exogenous application of citrulline on prolonged water stress damages in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): Antioxidant activity, biochemical indices, and essential oils profile. *Food Chemistry*, 332(2), 1-25.
4. Ahmadi, H., Babalar, M., Askari Sarcheshmeh, M. A., Morshedloo. (2021). The effect of water deficiency stress and citrulline on essential oil content, photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) in different harvests. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52 (3), 593-604. (in Farsi).
5. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., Aghaee, A., & Maggi, F. (2021). *Funneliformis mosseae* inoculation under water deficit stress improves the yield and phytochemical characteristics of thyme in intercropping with soybean. *Scientific Reports*, 11(1), 1-13.
6. Andi, S., Nazeri, V. and Hadian, J. (2012). A comparison of the essential oil chemical composition of Origanum vulgare L. ssp. vulgare collected in its flowering and seed stages from southern region of Chalus. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 43(2), 153-159. (in Farsi).
7. Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026-2032.
8. Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, M. Y., & Abbasi, K. Y. (2011). Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 43(1), 15-19.
9. Azizi, A., Yan, F., & Honermeier, B. (2009). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*, 29(2-3), 554-561.

10. Babaee, K., Dehaghi, M. A., Sanavi, S. M., & Jabbari, R. (2010). Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2), 239-251. (In Farsi).
11. Baker, N. R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1607-1621.
12. Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 271-275.
13. Biglari, T., Maleksaeidi, H., Eskandari, F., & Jalali, M. (2019). Livestock insurance as a mechanism for household resilience of livestock herders to climate change: Evidence from iran. *Land Use Policy*, 87, 1-9.
14. Bahreininejad, B., Razmjou, J., & Mirza, M. (2013). Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. *International Journal of Plant Production,*7(1), 151-166.
15. Cai, L., & Feng, Y. (2020). Effects of exogenous ABA on the physiological characteristics and chlorophyll fluorescence of *Gynura cusimbua* seedlings under drought stress. In: *International Conference on Green Development and Environmental Science and Technology*, 18-20 Sep., Changsha, China, pp. 1-6.
16. Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551-560.
17. Delfine, S., Loreto, F., Pinelli, P., Tognetti, R., & Alvino, A. (2005). Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 106(2-3), 243-252.
18. Emrahi, R., Morshedloo, M. R., Ahmadi, H., Javanmard, A., & Maggi, F. (2021). Intraspecific divergence in phytochemical characteristics and drought tolerance of two carvacrol-rich *Origanum vulgare* subspecies: subsp. *hirtum* and subsp. *gracile. Industrial Crops and Products,* 168, 1-11.
19. Farahani, H. A., Valadabadi, S. A., & Khalvati, M. A. (2009). Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5), 329-333.
20. Fouad, R., Bousta, D., Lalami, A. E. O., Chahdi, F. O., Amri, I., Jamoussi, B., & Greche, H. (2015). Chemical composition and herbicidal effects of essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, eucalyptus cladocalyx, *Origanum vulgare* L and *Artemisia absinthium* L. cultivated in morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(1), 112-123.
21. Govahi, M., Ghalavand, A., Nadjafi, F., & Sorooshzadeh, A. (2015). Comparing different soil fertility systems in sage (*Salvia officinalis*) under water deficiency. *Industrial Crops and Products*, 74, 20-27.
22. Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mokhtassi-Bidgoli, A., & Nicola, S. (2016). Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 141-148.
23. Jiang, T., Liu, J., Gao, Y., Sun, Z., Chen, S., Yao, N., Ma, H., Feng, H., Yu, Q., & He, J. (2020). Simulation of plant height of winter wheat under soil water stress using modified growth functions. *Agricultural Water Management*, 232, 1-12.
24. Kabiri, R., Nasibi, F., & Farahbakhsh, H. (2014). Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *Nigella sativa* plant under hydroponic culture. *Plant Protection Science*, 50(1), 43-51.
25. Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., & Ladle, R. J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 1-11.
26. Kamanga, R.M., Mbega, E., & Ndakidemi, P. (2018). Drought tolerance mechanisms in plants: physiological responses associated with water deficit stress in *Solanum lycopersicum*. *Advances in Crop Science and Technology*, 6(3), 1-8.
27. Karimi, H., Zeidali, A., & Omidipour, R. (2017). Evaluation the effect of standard precipitation index on the rainfed wheat yield in ilam province. *Watershed Engineering and Management*, 9(4), 493-499. (In Farsi).
28. Khalid, K. A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herba (*Ocimum* sp.). *International Agrophysics*, 20(4), 289-296.
29. Klughammer, C., & Schreiber, U. (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. *PAM Application Notes*, 1(2), 201-247.

30. Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., & Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 84-88.
31. Madhava, K.V., Raghavendra, A. S., & Reddy, K. J. (Eds.). (2006). *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants.* Springer Science & Business MediaIndia.
32. Mehta, P., Kraslavsky, V., Bharti, S., Allakhverdiev, S. I., & Jajoo, A. (2011). Analysis of salt stress induced changes in photosystem II heterogeneity by prompt fluorescence and delayed fluorescence in wheat (*Triticum aestivum*) leaves. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 104(1-2), 308-313.
33. Misra, A., & Srivastava, N. K. (2000). Influence of water stress on japanese mint. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 7(1), 51-58.
34. Momenpour, A., Imani, A., Bakhshi, D., & Rezaei, H. (2015). Evaluation of salinity tolerance in some almond genotypes grafted on GF677 rootstock base on morphological characteristic and chlorophyll fluorescence. *Journal of Plant Process and Function*, 3 (10), 9-28.
35. Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F., & Hashempour, H. (2019). Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well-watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 129, 561-574.
36. Morshedloo, M. R., (2016). *Evaluation of physiological, phytochemical and gene expression pathway of iranian oreganos (Origanum vulgare L.) under water deficit conditions*. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran.(In Farsi).
37. Morshedloo, M. R., Salami, S. A., Nazeri, V., & Craker, L. E. (2017a). Prolonged water stress on growth and constituency of Iranian oregano (*Origanum vulgare* L.). *Journal of Medicinally Active Plants*, 5(2), 7-19.
38. Morshedloo, M. R., Craker, L. E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H., & Maggi, F. (2017b). Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111, 119-128.
39. Morshedloo, M. R., Maggi, F., Neko, H. T., & Aghdam, M. S. (2018a). Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit: Essential oil variability in iranian populations. *Industrial Crops and Products*, 11(1), 1-7.
40. Morshedloo, M. R., Salami, S. A., Nazeri, V., Maggi, F., & Craker, L. (2018b). Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. *Industrial Crops and Products,* 119, 183-190.
41. Morshedloo, M. R., Pirali Hamedani, M., & Yazdani, D. (2018c). An over review to *Origanum vulgare* L. and its pharmacological properties. *Journal of Medicinal Plants*, 4(68), 15-31.
42. Novak, J., Grausgruber, H., Pank, F., Langbehn, J., Blüthner, W. D., Vender, C., & Franz, C. (2003). Stability of hybrid combinations of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 18(5), 401-406.
43. Omidbaigi, R. (2005). *Production and processing of medicinal plants*: *Volume 2* (1th ed.). Razavi Ghods Astan Publication.(In Farsi).
44. Ormeno, E., & Fernandez, C. (2012). Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. *Current Bioactive Compounds,* 8(1), 71-79.
45. Ouni, Y., Mateos-Naranjo, E., Abdelly, C., & Lakhdar, A. (2016). Interactive effect of salinity and zinc stress on growth and photosynthetic responses of the perennial grass, *Polypogon monspeliensis*. *Ecological Engineering*, 95, 171-179.
46. Pirzad, A., Shakiba, M. R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S. A., Darvishzadeh, R., & Samadi, A. (2011). Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2483-2488.
47. Pollastrini, M., Holland, V., Brüggemann, W., Bruelheide, H., Dănilă, I., Jaroszewicz, B., & Bussotti, F. (2016). Taxonomic and ecological relevance of the chlorophyll a fluorescence signature of tree species in mixed european forests. *New Phytologist*, 212(1), 51-65.
48. Prathyusha, I. V. S. N., & Chaitanya, K. V. (2019). Effect of water stress on the physiological and biochemical responses of two different coleus (*Plectranthus*) species. *Biologia Futura*, 70, 312-322.
49. Rahimi, Y., Taleei, A., & Ranjbar, M. (2018). Long-term water deficit modulates antioxidant capacity of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Scientia Horticulturae*, 237, 36-43.
50. Rahimi, A., Madah Hosseini, S., Pooryoosef, M., & Fateh, I. (2010). Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *Plantago psyllium. Plant Ecophysiology*, 2, 53-60.

51. Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., & Sabzalian, M. R. (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 10(4), 451-454.
52. Saedi, F., Sirousmehr, A., & Javadi, T. (2020). Effect of nano-potassium fertilizer on some morpho-physiological characters of peppermint (*Mentha piperita* L.) under drought stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(1), 35-45. (In Farsi).
53. Saffari, R., Maghsoudi Mood, A. A., & Saffari, V. R. (2013). Effect of salt stress on chlorophyll fluorescence and grain yield of some sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Seed and Plant Production Journal*, 1 (29), 109-130. (In Farsi).
54. Safikhani, F. A., Heydari, S. H., Siadat, S. A. E., Sharifi, A. E., Seyednezhad, S., & Abbaszadeh, B. (2007). The effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Deracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(1), 86-99. (In Farsi).
55. Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., & Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. vulgare in the eastern anatolia region of turkey. *Food Control*, 15(7), 549-557.
56. Said-Al Ahl, H. A. H., & Hussein, M. S. (2010). Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 3(1), 125-141.
57. Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2020). Agronomic crop responses and tolerance to drought stress. *Agronomic Crops*, *3*, 63-91.
58. Sarikurkcu, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R., & Aktumsek, A. (2015). Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70, 178-184.
59. Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Jo, J. S., Song, J. W., & Lee, J. G. (2021). Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities in lettuce seedlings. *Horticulturae*, 7(8), 1-16.
60. Soheili Movahhed, S., Esmaeili, M., Jabbari, F., Khorramdel, S., & Fouladi, A. (2017). Effects of water deficit on relative water content, chlorophyll fluorescence indices and seed yield in four pinto bean genotypes. *Journal of Crop Production*, 10(1), 169-190.
61. Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant physiology*. Sinauer Associates.
62. Varma, A., Prasad, R., & Tuteja, N. (2018). *Mycorrhiza-nutrient uptake, biocontrol, ecorestoration* (4th ed.). Springer.
63. Vazirian, M., Mohammadi, M., Farzaei, M. H., Amin, G., & Amanzadeh, Y. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. vulgare essential oil from Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, *2*(1), 41-46.